Istituto di Patologia Generale della R. Università di Roma
diretto dal Prof. A. BIGNAMI

Dott. M. ALMAGIÀ

Ricerche sulla possibilità di neutralizzare la stricnina con colesterina e lecitina e sulla influenza della iperemia da stasi (Bier) in alcune intossicazioni.

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXXIII - Fasc III-IV



ROMA
F Centenari & C°, Tipografi
—
1907

Istituto di Patologia Generale della R. Università di Roma
diretto dal Prof. A. BIGNAMI

Dott. M. ALMAGIÀ

Ricerche sulla possibilità di neutralizzare la stricnina con colesterina e lecitina e sulla influenza della iperemia da stasi (Bier) in alcune intossicazioni.

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXXIII - Fasc III-IV



ROMA
F. Centenari & C°, Tipografi
—
1907

Dopo aver dimostrato con un precedente lavoro (1), che la tossina tetanica viene fissata e disintossicata dalla sostanza nervosa centrale in virtù di certi corpi ch' essa contiene e più specialmente per opera della colesterina e poi della lecitina, mi parve interessante e logico ricercare se gli stessi rapporti valessero per la stricnina. Si sa che tanto la tossina tetanica, quanto la stricnina, possiedono una affinità speciale per il tessuto nervoso; tutti e due questi veleni producono gl' identici sintomi nell'organismo animale e alcuni vogliono che il siero antitetanico abbia proprietà neutralizzante anche per la stricnina (2). Avendo io dunque già dimostrato che la lecitina e più ancora la colesterina, in un contatto di 2 a 3 ore a 37°, neutralizzano la tossicità di più dosi mortali di tossina tetanica, cominciai dal ripetere le stesse esperienze con la stricnina. Come animale da esperimento seguitai a valermi della cavia. La colesterina la preparai da me, estraendola da sostanza nervosa o da calcoli della cistifellea; la lecitina era quella ovo Merk; la stricnina era sotto forma di nitrato.

Con numerose prove mi convinsi che 4 milligrammi del sale di stricnina uccidevano un chilogrammo di cavia, sicchè partii sempre da questo rapporto per determinare la dose mortale minima in relazione con il peso dell'animale.

(1) Almagià - Lo Sperimentale, 1906, fasc. V.
(2) Lusini - La Rif. med., 1897, p. 201.

ESPERIENZA I. — ***Stricnina + Lecitina.***

Soluzione nitrato di stricnina 2 per mille. Soluzione lecitina ovo Merk 2 per cento.

2 cmc. soluzione stricnina + 1 cmc. soluzione lecitina (1). — 2 cmc. soluzione stricnina + 1 cmc. H^2O (2). (tengo per 5 ore a 37°).

1. — Cavia gr. 190. Iniezione sottocutanea 2 cmc. del liquido 2. Muore subito.
2. — Cavia gr. 190. Iniezione sottocutanea 2 cmc. del liquido 1). Dopo pochi minuti ha fortissime contrazioni, dalle quali esce un poco abbattuta. Dopo circa 30 minuti sta nuovamente bene e benissimo seguita a stare durevolmente.

Soluzione stricnina 4 cmc. + soluzione lecitina 1 cmc. (3). — Soluzione stricnina 4 cmc. + H^2O 1 cmc. (4). (4 ore a 37°).

3. — Cavia gr. 328. Iniezione 2 cmc. della soluzione 3), in due volte, a distanza di 10 minuti. Muore subito dopo la seconda iniezione.
4. — Cavia gr. 290. Iniezione 3 cmc. della soluzione 4). Resiste 15 minuti in preda a forti fenomeni stricnici, poi muore.

Aggiungo 2 cmc. di soluzione lecitina alla soluzione 3) (5), (altre 2 ore a 37°).

5. — Cavia gr. 300. Iniezione 2 cmc. soluzione 5). Nessuna manifestazione durante 20 minuti. Inietto altri 2 cmc. Dopo 5 minuti ipereccitabilità, poi leggere contrazioni che aumentano gradatamente d'intensità e, dopo circa 15 minuti, morte.

6 cmc. soluzione stricnina + 3 cmc. soluzione lecitina (6). (3 ore a 37°).

6. — Cavia gr. 200. Iniezione 3 cmc. Nei primi 12 minuti nessuna manifestazione, poi leggere contrazioni e finalmente gravissimi accessi, che si protraggono per oltre 20 minuti, finchè l' animale muore.
7. — Cavia gr. 250. Iniezione 2 cmc. Morte in 20 minuti.

4 cmc. soluzione stricnina + 4 cmc. soluzione lecitina (7). (3 ore a 37°).

8. — Cavia gr. 260. Iniezione 2 cmc. Dopo pochi minuti ipereccitabilità, andatura spastica, leggere contratture. Però sopravvive e al mattino di poi sta benissimo. Iniettο ancora 2 cmc. Leggera ipereccitabilità. Dopo 20 minuti inietto ancora 2 cmc. Subito manifestazioni gravi e, dopo 20 minuti, morte.
9. — Cavia gr. 200. Iniezione 2 cmc. Sopravvive.

ESPERIENZA II. — *Stricnina + Colesterina.*

Soluzione nitrato di stricnina 2 per mille.

10. — Cavia gr. 300. Iniezione di 4 cmc. soluzione stricnina + gr. 0,2 colesterina, dopo 2 ore di 37°. Dopo pochi minuti fortissime contrazioni, che si prolungano per 4 ore, finchè l'animale muore.

11. — Cavia gr. 215. Iniezione di 2 cmc. soluzione stricnina + gr. 0,2 colesterina. L'animale sta malissimo, però prevalgono fenomeni di paralisi su quelli tetanici. Dopo circa 20 minuti di forte abbattimento, l'animale torna a stare abbastanza bene. Lo trovo morto al mattino seguente.

12. — Cavia gr. 200. Iniezione 2 cmc. soluzione stricnina + gr. 0,02 colesterina.

13. — Cavia gr. 200. Iniezione 4 cmc. soluzione stricnina + gr. 0,2 colesterina.

Muoiono dopo parecchie ore.

4 cmc. soluzione stricnina + 0,2 colesterina, 2 ore a 37°, poi filtro e il filtrato l'inietto a

14. — cavia di gr. 175. Dopo 10-15 minuti di periodo di latenza, manifestazioni gravi e poi morte in 2 ore.

Solfato di stricnina 0,02 + colesterina 0,04 + H^2O 20 cmc.

15. — Cavia gr. 220. Iniezione 3 cmc. Muore dopo 2 ore.

16. — Cavia gr. 225. Iniezione 2 cmc. Nessuna manifestazione. 3 ore dopo inietto ancora 1 cmc. Niente. Il giorno appresso (18 novembre 1906) inietto ancora 1 cmc., senza che si determini veruna manifestazione. Dopo poche ore altra iniezione di 1 cmc. Benissimo. Il 19 inietto altri 2 cmc. Lieve ipereccitabilità e sussulti di tutto il corpo. Il 20, l'animale stando benissimo, inietto ancora 2 cmc. Nessuna manifestazione. Il 21 iniezione di 3 cmc. Dopo pochi minuti, convulsioni gravi, che però durano pochi minuti, chè l'animale torna a star bene. Il 22 inietto 2 cmc. Irrequietezza, ipereccitabilità, sussulti. Poi benissimo durevolmente. In complesso l'animale ha ricevuto in 6 giorni *12 mgr.* di stricnina.

17. — Cavia gr. 225. Iniezione 3 cmc. Dopo vari minuti gravi contrazioni, sussulti, lamenti, poi completa rilasciatezza di tutto il corpo. Tale stato dura circa tre quarti d'ora, poi l'animale si rialza e, barcollando, cammina e torna a mangiare. Il giorno appresso sta benissimo. Inietto ancora 2 cmc. senza che si abbia alcuna manifestazione. Dopo 24 ore inietto 2 mgr. di sola stricnina e l'animale muore subito.

18. — Cavia gr. 275. Iniezione 4 cmc. della soluzione filtrata. Morte dentro un' ora

19. — Cavia gr. 350. Iniezione 4 cmc. della soluzione filtrata. Dopo circa mezz'ora di stato tra il soporoso e l' ipnotico, l'animale torna a star bene.

20. — Cavia gr. 250. Iniezione del residuo rimasto sul filtro, sciolto in 2 cmc. d'acqua. Nessuna manifestazione.

21. — Cavia gr. 250. Iniezione 1 cmc. soluzione nitrato di stricnina 2 per mille. Morte subitanea.

22. — Cavia gr. 260. Iniezione 1 cmc. di una soluzione di 20 cmc. nitrato stricnina 2 per mille + 0,1 colesterina. Nessuna manifestazione.

23. — Cavia gr. 225. Iniezione 2 cmc. della suddetta soluzione. Fenomeni gravi subito. Morte dopo mezz'ora.

24. — Cavia gr. 225. Iniezione 1 cmc. della detta soluzione. Nessuna manifestazione. Il giorno appresso inietto ancora 1 cmc. Niente. Dopo 20 minuti altra iniezione di 1 cmc., sempre senza manifestazioni. Il giorno dopo inietto 1 cmc. e 24 ore più tardi cmc. 1 $^1/_2$. L'animale sta sempre benissimo. Inietto 2 cmc. e allora sopravvengono i fenomeni gravi e l'animale muore in un'ora.

Analizzando le esperienze suddescritte, risulta innanzi tutto, che la lecitina e la colesterina neutralizzano parte della tossicità della stricnina, tanto che si può iniettarne alle cavie, animale sensibilissimo all'azione di tale veleno, più dosi mortali, senza che esse soccombano.

Infatti le cavie 1 e 2 che hanno lo stesso peso e che vengono iniettate l'una con stricnina semplice, l'altra con stricnina lecitina si comportano differentemente di fronte al veleno e la prima muore subito, la seconda sopravvive. Così pure la cavia 9 sopravvive alla iniezione di 2 dosi mortali minime e tutte le altre abbisognano di parecchie dosi mortali per soccombere. Anche quando più dosi mortali vengono iniettate in una sola volta, l'animale resiste più che di fronte alla sola dose mortale minima di stricnina pura, p. es. la cavia 6, malgrado l'iniezione di 5 d. m. m. ha un periodo di latenza abbastanza lungo e poi resiste per oltre 20 minuti alla influenza del veleno. Più che con la lecitina, il fatto della neutralizzazione del veleno è evidente con la colesterina. L'esempio più dimostrativo ne è dato

dalla cavia 16, che ricevè in 2 giorni 12 mgr. di stricnina, il che, dato il suo peso, corrisponde a più che 13 d. m. eppure essa sopravvive.

La 19 resiste alla iniezione di circa 3 d. m. Le 21 e 22 vengono iniettate l'una con sola stricnina, l'altra con stricnina e colesterina, ricevendo però questa una quantità doppia del veleno, eppure la 21 muore istantaneamente, la 22 sopravvive.

La cavia 24 sopporta quasi 10 d. m. iniettate a dosi crescenti nello spazio di 3 giorni e bisogna portare a 4 le dosi mortali, perchè l'animale muoia; però anche allora esso resiste per più che un'ora al veleno. Che queste cavie sopravvissute fossero naturalmente più resistenti delle altre all'azione della stricnina, non è logico supporlo, giacchè bastò sempre l'iniezione di una semplice dose mortale per uccidere quegli animali che avevano sopravvissuto alla iniezione di più dosi con colesterina. Altro fatto che risulta dalle esperienze, è la non completa corrispondenza tra la quantità di lecitina o colesterina poste nella soluzione di stricnina e la diminuzione della sua tossicità. Il che non depone in favore di una combinazione chimica tra le sostanze. Prima però di discutere la natura del fenomeno per il quale la lecitina e la colesterina rendono meno tossica una soluzione di stricnina, ricorderò le esperienze fatte con le cavie 18 e 19, alle quali iniettai il filtrato del miscuglio di stricnina più colesterina, onde vedere se il veleno aderisse a questa, rimanendo svelenato completamente o quasi il liquido. Però mi avvidi che anche se filtrato, il liquido iniettato in dose eccessiva rimane tossico. Iniettai poi ad altra cavia (la 20) il residuo rimasto sul filtro è costituito di colesterina e, presumibilmente, di stricnina, ma l'animale non reagì in alcuna maniera.

Dopo avere da principio mantenuto per vario tempo a 35° i miscugli, onde seguire quella tecnica, che avevo trovata necessaria nelle esperienze con la tossina tetanica, volli vedere se la tossicità della stricnina divenisse minore del normale, anche quando essa venisse iniettata appena fatto il miscuglio con la colesterina. E difatti le cavie 22, 23 e 24, iniettate in tali condizioni, si comportarono come le altre, iniettata dopo che il miscuglio era stato tenuto a 37°. Dunque non è necessario, come per la tossina tetanica, che la stricnina e la colesterina

rimangano qualche tempo a contatto, con un optimum di temperatura a 37° e anche ciò parla contro l'idea di un legame chimico che, del resto, nemmeno l'ipotesi scientifica era propensa ad accettare, data la natura dei due componenti. Rimane l'ipotesi della azione meccanica esercitata dalla colesterina e dalla lecitina sulla stricnina e, in questo caso, altre sostanze anche le più indifferenti, potrebbero esercitare sul veleno la stessa azione neutralizzante della sua tossicità. Fu con questa idea, che provai a iniettare soluzione di stricnina, precedentemente agitata per breve tempo, con piccola quantità di polvere di carbone animale.

Esperienza III. — ***Stricnina + Carbone.***

25. — Cavia gr. 260. Iniezione: 2 mgr. nitrato di stricnina in 2 cmc. H^2O dist. + poca polvere di carbone animale. Nessuna manifestazione. Nei due giorni seguenti inietto ancora prima 2, poi 4 mgr. di stricnina + carbone, sempre senza che si manifestino sintomi d'avvelenamento.

26. — Cavia gr. 360. Iniezione: 4 mgr. di nitrato di stricnina + carbone. Niente.

Il giorno appresso ripeto l'iniezione. Morte.

27. — Cavia gr. 375. Iniezione: 4 mgr. stricnina + carbone. Niente.

Dopo 10 ore inietto altri 4 mgr. Morte subitanea.

28. — Cavia gr. 350. Iniezione: 4 mgr. di stricnina + carbone in 3 cmc. d'acqua distillata. Filtro e inietto. Niente. Il carbone rimasto sul filtro lo sospendo in 2 cmc. d'H^2O e l'inietto nel sacco peritoneale di una cavia. Non da luogo ad alcun fenomeno.

Prendo pochi cmc. di soluzione di nitrato di stricnina 1 per mille, vi aggiungo pochissima polvere di carbone animale, agito brevemente, poi filtro.

29. — Cavia gr. 260. Inietto 4 cmc. del filtrato (= 4 mgr. di nitrato di stricnina). Nessuna manifestazione.

30. — Cavia gr. 460. Inietto 5 cmc. del filtrato. Nessuna manifestazione.

Riprendo il carbone rimasto sul filtro e lo aggiungo a 10 cmc. di soluzione di stricnina 1 per mille. Agito. Filtro.

31. — Cavia gr. 260. Inietto cmc. 3 e mezzo del filtrato. Nessuna manifestazione.

32. — Cavia gr. 260. Iniettto 5 cmc. del filtrato (= 5 mgr. di stricnina). Nessuna manifestazione.

Riprendo ancora il carbone dal filtro, vi aggiungo 7 cmc. di soluzione di stricnina 2 per mille. Agito. Filtro.

Ne iniettto cmc. 1,5 alla Cavia 31. Nessuna manifestazione.

33. — Cavia gr. 260. Iniettto 4 cmc. del filtrato (= 8 mgr. di stricnina). Morte dopo pochi minuti.

Il carbone del filtro lo sciolgo in poca acqua e l'iniettto nel sacco addominale di una rana. Fenomeni stricnici accentuati, ai quali però l'animale sopravvive e durevolmente.

Agito con pochissimo carbone 20 cmc. di soluzione di stricnina 2 per mille. Lascio depositare. Filtro. Il filtrato lo agito con nuovo carbone, poi filtro di nuovo.

34. — Cavia gr. 540. Iniettto 6 cmc. del filtrato. Nessuna manifestazione.

Il carbone del filtro lo sospendo in poca acqua e lo iniettto nel sacco addominale di una rana. Lievi manifestazioni stricniche per 24 ore, poi sopravvive durevolmente.

Soluzione nitrato di stricnina 2 per mille + carbone. Agito per circa due minuti, poi filtro. Iniettto del filtrato a:

35. — Cavia gr. 190. Cmc. 3. Latenza di 10 minuti, poi fenomeni gravi e morte in 20 minuti.

Aggiungo nuovo carbone al liquido, agito, filtro e iniettto.

36. — Cavia gr. 150. Cmc. 3, senza che si manifesti alcun fenomeno.

37. — Cavia gr. 140. Cmc. 5, anche senza alcuna manifestazione. Dopo 12 ore iniettto altri 10 cmc. Nessun fenomeno.

Una piccola quantità del carbone del filtro la iniettto nell'addome di una rana. Nessuna manifestazione nelle prime 2 ore, poi manifestazioni stricniche intense e costanti per oltre 3 giorni.

La conclusione che si trae da questa terza serie di esperienze è che il carbone svelena la soluzione di stricnina e che se si aggiunge quantità sufficiente di esso, si può far perdere qualunque tossicità alla soluzione stessa.

Quasi certamente la lecitina e la colesterina agiscono sulla soluzione di stricnina con lo stesso meccanismo del carbone.

Quale è però questo meccanismo? Non si può supporre altro che un assorbimento meccanico della stricnina da parte del

carbone — a meno che non si voglia tener conto di recentissime ipotesi, che attribuiscono al carbone proprietà ossidanti e in tal caso si potrebbe parlare di possibili modificazioni della stricnina.

Nelle mie ricerche sul rapporto tra la colesterina e la lecitina con la tossina tetanica, io ero stato propenso ad ammettere che la neutralizzazione della tossicità di questa per effetto di quelle, fosse il risultato di combinazioni chimiche tra le sostanze. Ora mi sorse naturamente il dubbio, che, come per la stricnina, potesse essere sufficiente della semplice polvere di carbone, per neutralizzare la tossicità della tossina tetanica.

Esperienza IV. — *Tossina tetanica + Carbone.*

Alcuni cmc. di tossina tetanica vengono agitati durante pochi minuti, con una piccola presa di carbone; poi lascio depositare, e del liquido limpido sottostante ne inietto a :

38. — Cavia gr. 170. Cmc. 1.
39. — Cavia gr. 170. Cmc. 2.
40. — Cavia gr. 170. Cmc. 3.

Muoiono tutte e tre dentro le 18 ore.

Inietto la tossina pura a :

41. — Cavia gr. 175. Cmc. 0,5.
42. — Cavia gr. 175. Cmc. 1.

Muoiono a breve intervallo tra di loro, circa 24 ore dopo l'iniezione.

Ripeto l'iniezione della tossina agitata con carbone :

43. — Cavia gr. 220. Cmc. 1.
44. — Cavia gr. 260. Cmc. 1.

Muoiono dopo 24 ore.

Sicchè rimane provato che il carbone non neutralizza la tossicità della tossina tetanica, chè anzi, le cavie iniettate con detta tossina precedentemente agitata con carbone, morirono in tempo anche più breve che non quelle iniettate con sola tossina.

Dunque la lecitina e la colesterina hanno azione neutralizzante tanto sulla tossina tetanica che sulla stricnina, però il

meccanismo di azione è differente nei due casi e, per la stricnina è paragonabile al modo di agire della polvere di carbone, che invece non ha azione neutralizzante sulla tossina del tetano.

Questi risultati mi fecero ritenere interessante di ricercare quale fosse l'influenza che la lecitina o la colesterina potevano esercitare sopra un altro veleno del sistema nervoso e cioè sul curaro.

Esperienza V. — ***Curaro + colesterina o lecitina.***

Usando una soluzione di curaro 1 °|₀ e sempre servendomi della cavia feci una serie di esperienze sulla guida di quelle già fatte con la stricnina piu lecitina. Gli animali morirono tutti appena si raggiungeva la dose mortale per il controllo. Anzi, se io potessi fare astrazione dalla incostanza grande di azione della soluzione di curaro e dal fattore individuale dell'animale, dovrei dire che la soluzione di curaro-lecitina riesce più tossica che non il solo curaro.

Invece, iniettando il curaro + colesterina vidi sopravvivere gli animali iniettati con dosi uguali a quelle che fecero soccombere gli animali controllo.

40 cmc. soluzione curaro 1 per cento + 0,2 colesterina.

45. — Cavia gr. 265. Iniezione di 2 cmc. soluzione curaro 1 per cento. Nessuna manifestazione. Il giorno appresso inietto altri 2 cmc. Niente. Dopo 3 ore ancora 1 cmc. e dopo 10 minuti 1 cmc. Manifestazioni gravi e morte.

46. — Cavia gr. 260. Iniezione 2 cmc. della soluzione di curaro + colesterina. Il giorno appresso ancora 2 cmc. Dopo un' ora ancora 1 cmc. Dopo 10 minuti 1 cmc. Benissimo e sopravvive durevolmente.

47. Cavia gr. 350. Nello spazio di due giorni inietto 14 cmc. di soluzione curaro 1 per cento. L'animale muore dopo pochi minuti dall'ultima iniezione.

48. Cavia gr. 330. Nello spazio di due giorni inietto 14 cmc. della soluzione curaro 1 per cento + colesterina. L'animale presenta leggeri sintomi d'avvelenamento, poi sta benissimo durevolmente.

Le surriferite esperienze fatte con il curaro + lecitina e con il curaro + colesterina, per il loro risultato fanno ricordare l'azione

antagonistica che lecitina e colesterina hanno sul veleno del cobra, che dall'una sostanza viene attivato, dall'altra attenuato. Però, ripeto, io non posso nè voglio trarre dalle mie esperienze, conclusioni troppo assolute.

Rimane fin'ora assodato che tre veleni ad azione elettiva sul sistema nervoso centrale, possono essere tutti influenzati nella stessa maniera e cioè possono essere neutralizzati nella loro tossicità, sempre da una stessa sostanza, la colesterina, ma che questa non agisce in detti veleni sempre con lo stesso meccanismo, anzi talvolta si può pensare ad un legame e ad una azione chimica; altra volta si deve pensare ad una azione semplicemente meccanica, come quella che può venire esercitata sulla stricnina dalla polvere di carbone animale.

Si può da queste mie esperienze trarre delle conseguenze atte a chiarire qualche fenomeno sul modo di azione di dette sostanze tossiche sull'organismo animale?

***

Esperienze fatte anni or sono da Czylarz e Donath e controllate poi da altri, hanno dimostrato che se si lega una estremità ad una cavia e si inietta nella parte inferiore alla legatura una dose mortale di stricnina, togliendo poi la legatura dopo 4 ore, la cavia non muore. Tra le diverse ipotesi avanzate dai vari autori per spiegare il fatto, le più discusse furono le seguenti. Che la muscolatura della parte legata e in essa il sangue e la linfa, producano un principio capace di neutralizzare la stricnina. Che il siero di sangue diminuisca la tossicità della stricnina. Che l'assorbimento sia più lento.

Baruchello ripetè gli esperimenti di Czylarz e Donath, modificandone la tecnica. Anzichè iniettare la stricnina al disotto di una legatura in un arto egli produsse una plica cutanea mediante compressione tra due pinze e in quella iniettò il veleno. Riuscì in tal modo ad iniettare dosi superiori alla mortale, senza che le cavie morissero. Provò con la stessa tecnica l'iniezione di cloridrato di pilocarpina; ma appena liberata dalle pinze la piega cutanea, il veleno agì come negli animali controllo.

In un lavoro fatto dal Fichera sulla influenza della iperemia

da stasi nelle infezioni acute, egli volle anche valutare quale fosse la influenza della iperemia da stasi di fronte alla intossicazione prodotta nelle cavie con l'iniezione di tossina tetanica.

La sua conclusione fu chè nel meccanismo di difesa dell'iperemia da stasi, non interviene un apprezzabile azione antitossica e che nei casi d'infezioni gravemente tossiche, l'iperemia può solo determinare un ritardo nella comparsa dei sintomi, per l'ostacolo meccanico alla penetrazione in circolo, o alla diffusione tra i tessuti delle tossine, che non vengono neutralizzate o distrutte.

Mettendo in raffronto i lavori di Czylarz e Donath, di Baruchello e quello del Fichera, si rimane colpiti dai differenti risultati che si hanno, secondo che la intessicazione venga prodotta con stricnina o con tossina tetanica. Io penso se il modo differente di comportarsi di questi due veleni nel miscuglio con il carbone, non abbia una certa analogia con l'altro differente modo di comportarsi di fronte alla stasi.

Perchè non si dovrebbe poter ammettere che, una volta prodotta la stasi in un territorio, per il conseguente accumulo di siero che in esso si determina e per le varie modificazioni che i tessuti subiscono nel loro stato fisico, certi veleni non possano aderire meccanicamente agli elementi dei tessuti, come la stricnina alla colesterina, e alla polvere di carbone, venendo poi forse ceduta all'organismo a poco a poco in modo che la distruzione e l'eliminazione va di pari passo con l'assorbimento?

E per quei veleni di fronte ai quali la stasi rappresenta una difesa inefficace o insufficiente, non si può pensare che contro di essi l'organismo disponga di altre risorse difensive, forse d'ordine chimico? Da questi presupposti furono ispirante le seguenti esperienze:

Tossina tetanica e stasi.

28 gennaio 1907.

49. Cavia gr. 200. Iniezione nella zampa posteriore sinistra di cmc. 0,1 tossina tetanica. Muore il 30 gennaio a ore 15.

50. — Cavia gr. 200. Iniezione id. come il n. 49, dopo avere prodotto iperemia da stasi nell'arto. Tolgo la legatura 2 ore dopo l'iniezione. Muore nella notte 1-2 gennaio.

51. — Cavia gr. 200. Iniezione cmc. 0,2 tossina tetanica nella zampa posteriore sinistra. Sintomi gravissimi il 30, muore nella notte 30-31 gennaio.

52. — Cavia gr. 200. Iniezione come il n. 51, subito dopo aver prodotto la stasi, che dura 2 ore. Muore nella notte 1-2 febbraio.

6 febbraio 1907.

53. — Cavia gr. 500. Iniezione cmc. 0,1 tossina tetanica nell'arto posteriore sinistro. I sintomi locali si manifestano l'8; il 9 l'animale muore.

54. — Cavia gr. 520. Produco iperemia da stasi mediante legatura di 4 ore nell'arto posteriore sinistro; poi inietto, sempre al disotto della legatura, 0,1 cmc. di tossina tetanica; dopo 15 minuti tolgo il laccio. I sintomi locali si manifestano il 13; l'animale muore il 15.

55. — Cavia gr. 625. Iperemia da stasi mediante 4 ore di legatura. Iniezione 0,2 cmc. tossina tetanica; dopo 15 minuti tolgo il laccio. Nei giorni seguenti riproduco l'iperemia mediante la legatura per un'ora al giorno. Il 10 si manifestano sintomi locali e generali. L'11 l'animale muore.

Tossina difterica e stasi.

6 febbraio 1907.

56. — Cavia gr. 525. Iniezione cmc. 0,1 tossina difterica. Muore al mattino del 7. Edema gelatinoso al luogo dell'iniezione. Capsule iperemiche e con emorragie puntiformi.

57. — Cavia gr. 580. Iperemia da stasi per 4 ore. Inietto cmc. 0,1 di tossina difterica e dopo 5 minuti tolgo il laccio. Il 7 e l'8 l'animale è svogliato, non si muove, non mangia. Muore al mattino del 9. All'autopsia trovo l'edema gelatinoso tipico, versamento nelle cavità sierose, le capsule emorragiche.

Come già in quelle del Fichera, così nelle mie esperienze la iperemia da stasi non si mostrò sufficiente a proteggere l'animale dalla morte, nemmeno di fronte a dosi di poco superiori alla mortale minima. Prolungò invece sempre il periodo di latenza delle manifestazioni locali e conseguentemente di quelle generali e la morte avvenne più tardi che negli animali di controllo. La durata della stasi, entro certi limiti e la quantità del veleno iniettato, influiscono sulla maggiore o minore rapidità con la quale i sintomi si fanno palesi, ed interviene la morte.

Dunque rimane confermato che due veleni i quali non vengono menomamente disintossicati per l'aggiunta di carbone animale (per brevità tralascio di ripetere le esperienze fatte con tossina difterica + carbone, riuscite negative), non risentono neppure l'influenza della iperemia da stasi, se iniettati; mentre invece la stricnina, che dal carbone può venire anche completamente disintossicata, se iniettata nell'arto legato o nella plica cutanea, non uccide l'animale nemmeno in dosi altrimenti certamente mortali.

Però, mentre a spiegare il comportamento della stricnina nella stasi, può bastare di paragonare a quella del carbone, l'azione che gli elementi dei tessuti possono esercitare su di essa, non so quanto la ipotesi del più lento assorbimento giustifichi il ritardo nelle manifestazioni tossiche dei veleni del tetano e della difterite.

Recentissimi lavori hanno dimostrato che alcuni veleni possono per effetto di acidi minerali o anche di alcuni acidi organici, venir scomposti in prodotti non tossici.

Quando si lega un arto ad un animale, tra tutte quelle modificazioni che la iperemia da stasi ne determina, ve ne saranno certamente anche di ordine chimico e se si pensa che la legatura costituisce uno stimolo ai muscoli dell'arto e che ogni loro più lieve irritazione può dar luogo, secondariamente, a maggior produzione di acido lattico, non è illogico il supporre che questo acido possa avere una influenza sui veleni iniettati in territorio con iperemia da stasi per legatura. Tanto più che già Roux e Yersin dimostrarono la proprietà disintossicante dell'acido lattico per la tossina difterica. Io volli ricercarla per la tossina tetanica e controllarla per la tossina difterica.

Tossina tetanica + acido lattico.

9 febbraio 1907.

58. — Cavia gr. 150. Iniezione sottocutanea in un arto posteriore di 1 cmc. soluzione 10/N di acido lattico. Il 13 si manifesta una leggera necrosi al punto d'iniezione.

59. — Cavia gr. 215. Iniezione 0,6 tossina tetanica + 1 cmc soluzione 10/N acido lattico, appena mischiati. Morta il 14. Escara necrotica al punto d'iniezione.

60. — Cavia gr. 200. Iniezione 0,3 tossina tetanica + 1 cmc. soluzione 10/N acido lattico dopo 4 ore di 37°.
61. — Cavia gr. 200. Iniezione 0,5 tossina tetanica + 1 cmc. soluzione 10/N acido lattico dopo 4 ore di 37°.
62. — Cavia gr. 290. Iniezione 1,- tossina tetanica + 1 cmc. soluzione 10/N acido lattico dopo 4 ore di 37°.

Escara necrotica al punto d'iniezione. Vivono durevolmente benissimo.

Tossina difterica + acido lattico.

15 febbraio 1907.

63. — Cavia gr. 175. Iniezione 0,1 tossina difterica (d. m. m. = 0,03) + 1 cmc. 10/N acido lattico, dopo 5 ore di contatto a 37°. Muore il 24 dopo 2 giorni di malessere evidente.
Autopsia e reperto positivi.

Risulta dalle mie esperienze che l'acidola ttico ha azione disintossicante tanto per la tossina difterica, quanto per quella tetanica, anzi specialmente per questa, che se si tien conto della dose minima per la tossina da me iniettata (1 goccia uccide in 3ª giornata una cavia di 200 grammi) si vede che 1cmc. di soluzione 10|N di acido lattico può neutralizzare un numero grandissimo di dosi mortali.

Interessante è l'esperienza con la cavia N. 59, morta in 5ª giornata dopo essere stata iniettata con la tossina + l'acido lattico appena mischiati, mentre le cavie 61 e 62 hanno sopravvissuto a dosi uguale e doppia di veleno, ma dopo che questo era stato per 4 ore a 37° a contatto con la soluzione di acido lattico.

Incidentalmente mi viene fatto di notare, a proposito dell'escara necrotica, che sempre si produsse in seguito alla iniezione di 1 cmc. di soluzione 10|N di acido lattico, che forse a questa iniezione neutralizzante si deve il fatto su cui tanto appoggiano Vaillard, Vincent e Rouget ed altri, onde spiegare perchè privando le colture di tetano della tossina, si può iniettare nelle cavie forti dosi di bacilli e di spore, senza che gli animali presentino alcun sintomo di malattia. Essi credettero di provare che spore e bacilli privi di tossina vengano distrutti dai fagociti, ma se ai bacilli si aggiunge una sostanza ad azione chemiotattica negativa, come p. es. l'acido lattico, i leucociti non intervenendo, i bacilli hanno il tempo di produrre la tossina e

l'animale ne muore. Molte obiezioni furono mossse agli AA. da altri ricercatori, ora a me sembra logico ammettere che l'acido lattico abbia, necrotizzando i tessuti preparato il terreno ad un più facile attechimento dei bacilli del tetano. Cadrebbe così in parte la esclusiva importanza che si credeva di aver dimostrato pei leucociti nelle esperienze citate.

Tornando ora alla grande influenza da me riscontrata dell'acido lattico sulla tossina tetanica, io mi chiedo se essa non sia da considerarsi come l'esponente di una difesa chimica che l'organismo oppone alla tossina. Una delle manifestazioni prime e certo la più imponente, nel quadro sintomatologico della infezione tetanica è rappresentata dalla rigidità, e le contrazioni toniche dei muscoli, prima manifestantisi in prossimità del punto d'origine della infezione e poi estendentisi a tutta la muscolatura del corpo. La produzione di acido lattico in tali condizioni deve essere enorme. Può esso, ripeto, rappresentare uno dei fattori di difesa, di immunità per l'organismo? Si può obiettare che spesso, anzi il più spesso, la morte dei malati avviene per spasmo di alcuni muscoli involontari, cioè quelli della respirazione e in tal caso, ciò che avrebbe dovuto rappresentare uno dei coefficienti di salvezza, ha invece determinato la morte all'individuo. Ma anche altri processi difensivi dell'organismo, quali p. es., l'infiammazione, l'ascesso, possono viceversa, se producentisi in determinati organi e in determinate proporzioni esser causa di morte. E la febbre che ancora da molti viene riconosciuta come esponente di processi difensivi che si compiono nell'organismo di fronte alle infezioni, quando raggiunge gradi troppo elevati, non è essa stessa, per le alterazioni fisiche e chimiche che induce nei tessuti, causa di gravi danni?

Il fatto che la stasi semplicemente prolunghi il periodo di latenza delle manifestazioni tossiche, ma non salvi l'animale neppure di fronte alla dose mortale minima, quand'anche la si inietti in territorio di stasi potrebbe escludere assolutamente qualunque influenza favorevole dell'acido lattico sulla tossina tetanica e vi sarebbe contradizione tra l'esperienza in vitro e quella in vivo. Però io ricordo che nell'esperienza in vitro si dimostrò la necessità del prolungato contatto tra la tossina e l'acido, perchè poi l'iniezione ne riuscisse innocua e ciò può

far ricordare l'esperienze dell'Ehrlich, con le quali egli dimostrò che il miscuglio tossina + antitossina è più facilmente dissociabile nel primo tempo di loro combinazione, anzichè dopo parecchio tempo. E le stesse esperienze del Dòrr (1) insegnano, che una tossina, la quale sia stata neutralizzata per effetto di un acido, spesso può venir riattivata per l'azione di un alcali, però dopo un certo tempo dalla neutralizzazione, la riatttivazione non è sempre possibile. Si può dunque anche ammettere che in territorio di stasi si formi acido lattico, ch'esso si combini con la tossina tetanica e l'attenui, però gli alcali dell'organismo agiscono sul complesso neoformato e lo scindono, ma l'invasione dell' organismo da parte della tossina avviene così più lenta ed esso ha il tempo per preparare gli altri più efficaci mezzi di difesa.

***

Accettata in questo senso, la influenza dell'acido lattico sulla tossina tetanica potrebbe portare contributo di luce nella tanto intricata questione dei poteri difensivi dell'organismo di fronte alle intossicazioni.

(1) Wiener Klinische Woch., 1907, I. H.
